

# Argonaute蛋白质在miRNA基因调控中的作用

周佳坤<sup>1,2</sup> 刘马峰<sup>1,2,3</sup> 贾仁勇<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup>四川农业大学禽病防治研究中心, 成都 611130; <sup>2</sup>四川农业大学预防兽医研究所, 成都 611130;

<sup>3</sup>动物疫病与人类健康四川省重点实验室, 成都 611130)

**摘要** miRNA(microRNA)是一类长约22 nt, 具有调控功能的内源性非编码小RNA。成熟miRNA由RNA聚合酶II/III转录的初级转录物经过一系列酶剪切加工产生, 最终与Argonaute蛋白质等复合为沉默效应复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)。miRNA通过与靶基因完全或部分序列互补配对, 指导RISC对靶基因进行降解或翻译抑制。Argonaute作为RISC的主要效应蛋白, 在miRNA的生成及靶基因的调控过程中起着重要作用。该文综述了Argonaute在miRNA介导的基因调控中的作用, 以期有助于miRNA调控网络的研究及机制的阐释。

**关键词** Argonaute蛋白质; miRNA; 基因调控

## Functions of Argonaute Protein in miRNA Regulation

Zhou Jiakun<sup>1,2</sup>, Liu Mafeng<sup>1,2,3</sup>, Jia Renyong<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup>Research Center for Avian Diseases, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

<sup>2</sup>Institute of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

<sup>3</sup>Key laboratory of Animal Diseases and Human Health of Sichuan Province, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

**Abstract** miRNA (microRNA) is approximately 22 nt in length and are defined as regulated endogenous non-coding RNA. Mature miRNAs are produced by pri-miRNAs which are transcribed by RNA polymerase II/III and modified by series of enzymes. The mature miRNAs and Argonaute proteins are incorporated into the RNA-induced silencing complex (RISC) eventually. miRNA guides RISC to degrade or repress target genes through base-paired completely or partially with target mRNAs. As core components of RISC, Argonaute plays an important role in the miRNA biogenesis and translational repression. This paper reviewed the effect of Argonaute protein on miRNA-mediated gene silencing. It would be helpful to further reveal the mechanisms of the regulation network of miRNAs.

**Keywords** Argonaute protein; miRNA; gene regulation

自首个miRNA(microRNA)在线虫中发现以来, 这类曾经被视作“垃圾基因”的小RNA, 重新进入人们的视野并开创了基因表达调控研究的新篇章。随着研究的深入, 人们发现, miRNA参与机体中许多重要的生理及病理过程, 如机体的生长发育<sup>[1]</sup>、肿瘤的发生<sup>[2]</sup>和免疫反应<sup>[3]</sup>等, 这使得其成为了生物学研究的焦点。miRNA沉默通路需要一系列蛋白质的参

与, 其中RISC(RNA-induced silencing complex)的核心效应成分Argonaute蛋白质备受关注。Argonaute广泛存在于真核生物中, 在进化上具有保守性, 研究发现, 其在miRNA合成及靶基调控中均有参与。本文在简要介绍Argonaute蛋白质结构与功能的基础上, 综述已有研究中Argonaute在miRNA沉默通路中的作用, 从效应蛋白Argonaute的角度阐述可能影响

收稿日期: 2016-06-29 接受日期: 2016-09-23

教育部博士点资助项目(批准号: 20125103110013)和四川省科技厅资助项目(批准号: 2013TD0015)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 028-86291176, E-mail: jiary@sicau.edu.cn

Received: June 29, 2016 Accepted: September 23, 2016

This work was supported by the Research Fund for the Doctoral Program of Ministry Education (Grant No.20125103110013) and Sichuan Province Research Programs (Grant No.2013TD0015)

\*Corresponding author. Tel: +86-28-86291176, E-mail: jiary@sicau.edu.cn

网络出版时间: 2016-12-19 16:11:26 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161219.1611.008.html>

miRNA沉默途径中的因素,为miRNA调控网络及作用机制的深入研究提供理论基础。

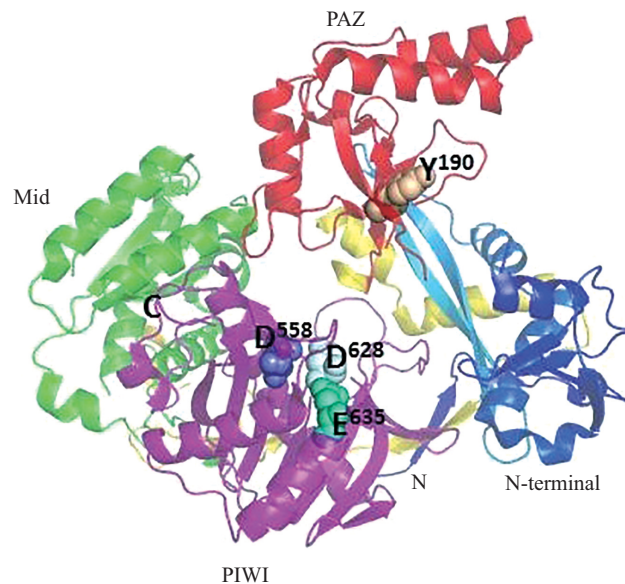
## 1 Argonaute蛋白质的结构与功能

Argonaute由700(如真细菌*Aquifex aeolicus*)~1 200(如果蝇AGO2)个氨基酸残基组成,约100 kDa,其结构在进化上具有高度保守性。Argonaute是RISC的核心效应成分,能为miRNA提供锚定位点,使其实现靶基因的降解或翻译抑制,在基因沉默信号转导途径中具有重要作用。真核生物Argonaute又可分为AGO蛋白质和PIWI蛋白质2个亚家族。AGO主要与siRNA和miRNA引起的基因沉默有关,PIWI则参与piRNA(*piwi-interacting RNA*)的生殖细胞转座沉默作用<sup>[4]</sup>。

蛋白质的生物功能通常由其结构决定。Kwak等<sup>[5]</sup>、Song等<sup>[6]</sup>和Kuhn等<sup>[7]</sup>利用X-射线晶体学分析火球菌(*Pyrococcus furiosus*)Argonaute的晶体结构(图1),发现Argonaute由4个结构域(N-端结构域、PAZ结构域、MID结构域和PIWI结构域)及2个Linker(连接N-端和PAZ的Linker 1、连接PAZ和Mid的Linker 2)构成。不同的结构域发挥着不同的生物学功能。

研究发现,PAZ结构域可识别并结合miRNA的3'端的2个悬垂核苷酸<sup>[8-9]</sup>;PIWI结构域具有由3个保守氨基酸(Asp597/Asp669/His807)构成的DDH三联体结构域,因而使Argonaute具有核酸内切酶类似活性,可将与之结合的小RNA裂解为含有3'羟基和5'磷酸的切割产物,但并非所有的Argonaute都具有剪切特性;PIWI结构域具有保守的识别口袋,可结合miRNA的5'磷酸基团<sup>[6,10]</sup>;MID结构域的口袋结构可结合miRNA的5'末端;N-端结构域的作用可能与miRNA:miRNA\*二倍体的解旋有关<sup>[5]</sup>。从Argonaute与miRNA作用的空间位点可知,成熟miRNA锚定于蛋白质的中心区域,这可能有利于其生物学功能的稳定发挥。

Argonaute蛋白质可与miRNA及mRNA复合这一特点,已被用于新miRNA靶标检测方法的建立。由于miRNA与mRNA作用的种子区域仅有6个核苷酸,因而其庞大的靶基因调控数据库的分析需借助生物信息学手段。目前广泛使用的是高通量测序法是在获取大量测序数据后再结合生物信息学方法,根据miRNA种子序列的进化保守性进行靶基因预测,但不同算法会得到不同的结果,



图为Argonaute蛋白质的立体带状结构图,红色为PAZ结构域、浅蓝色为Linker 1、蓝色为N-端结构域、绿色为MID结构域、紫色为PIWI结构域、黄色为Linker 2结构域。结构中的主要活性位点标注为球状,氨基酸残基Y<sup>192</sup>主要结合miRNA末端的2个核苷酸;氨基酸残基D<sup>558</sup>、D<sup>628</sup>、E<sup>635</sup>则构成DDH结构,使Argonaute具有剪切活性。

Stereoview ribbon representation of Argonaute showing the PAZ domain (red), the Linker 1 (light blue), the N-terminal domain (blue), the middle domain (green), the PIWI domain (purple), and the Linker 2 (yellow). The dominated active site residues are drawn in spheres representation. Residue Y<sup>192</sup> bind the penultimate nucleotide of miRNA. Residues D<sup>558</sup>, D<sup>628</sup>, E<sup>635</sup> form the DDH motif which makes Argonaute as a slicer.

图1 古细菌*P. furiosus*的Argonaute蛋白质结构(根据参考文献[5]修改)

Fig.1 The structure of *P. furiosus* Argonaute (modified from reference [5])

这使其可靠性受到一定的质疑。结合高通量测序(cross linking-immunoprecipitation-high throughput sequencing, HITS-CLIP)利用 Argonaute蛋白质与 miRNA及mRNA形成复合体的特点,通过抗体与 Argonaute蛋白质的作用拉下复合体,再对复合体纯化测序。此方法能更加精确地分析得到miRNA与其靶标mRNA,甚至发现新的miRNA,但是该方法仍需通过生物信息学方法筛选,因而依旧存在一定的假阳性率且抗体易产生非特异性背景信号,增加数据解析的难度。

## 2 Argonaute蛋白质在miRNA合成过程中的作用

### 2.1 miRNA合成过程

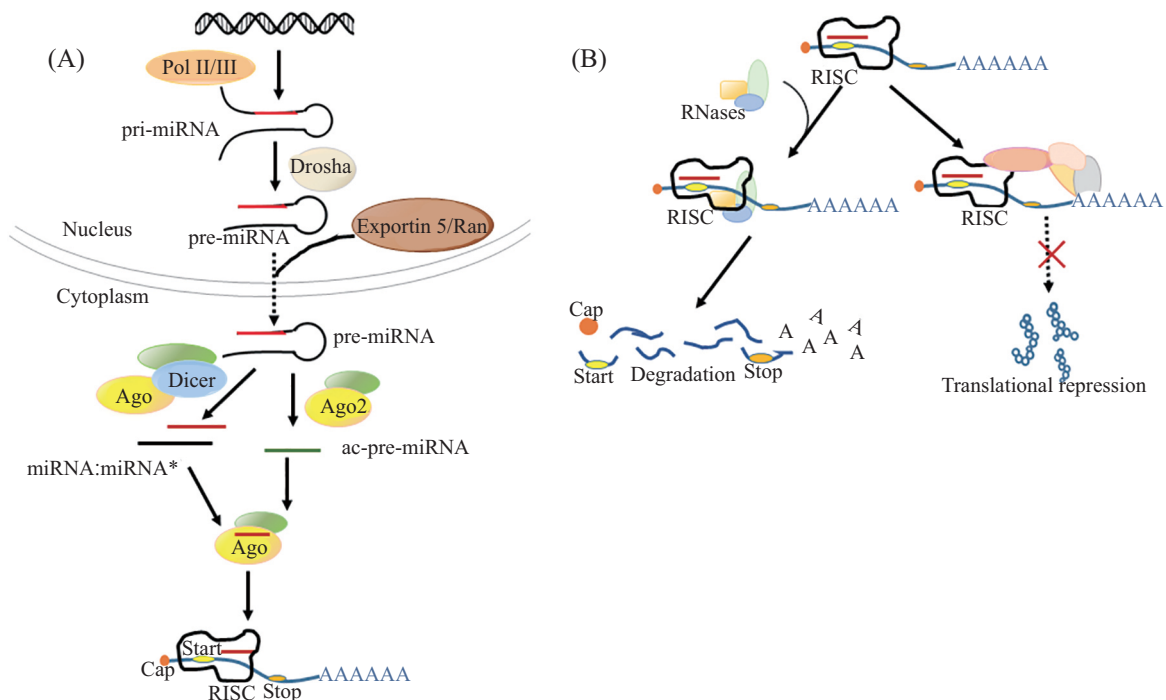
miRNA在动植物体内普遍存在,成熟的miRNA长21~23 nt。经典的miRNA合成过程起始于细胞核中RNA聚合酶II/III转录的具有帽子结构及多聚腺苷酸尾巴(AAAAA)的初级转录本(pri-miRNA)<sup>[11-12]</sup>。pri-miRNA经Drosha酶、DGCR8(DiGeorge syndrome critical region 8 protein)及双链RNA结合蛋白组成的核内“微处理器(microprocessor)”去除帽尾结构

生成约60~70 nt具有茎环结构的前体miRNA(pre-miRNA)<sup>[13-14]</sup>。pre-miRNA借助Ran-GTP/Exportin 5,从细胞核转运至细胞质中,其中,Ran-GTP能保护pre-miRNA不被外切核酸酶消化。在细胞质中,pre-miRNA与TRBP-AGO-Dicer三聚体<sup>[15]</sup>、Hsp70及Hsp90等复合为RISC<sup>[16]</sup>。接着,pre-miRNA在复合物中被Dicer进一步加工处理为21~23 nt的miRNA:miRNA\*二聚体,miRNA:miRNA\*二聚体与Argonaute装载复合并解旋,同时释放Dicer及miRNA\*形成最终效应物RISC,发挥基因调控作用。

在上述miRNA生成过程中,Drosha与Dicer酶似乎是不可或缺的,但研究发现,即使没有Drosha或Dicer酶的参与,miRNA也能产生,在miRNA的其他合成途径中称为非经典途径。目前,已报道的此类miRNA有不依赖Drosha的mirtron<sup>[17]</sup>、不依赖Dicer的Dicer非依赖型miRNA<sup>[18]</sup>。

### 2.2 Argonaute蛋白质对miRNA合成的影响

miRNA作为基因的转录产物,其生成和降解也会受到一定的调控。研究发现,Argonaute可直接作用于pre-miRNA产生新的miRNA,也可提高miRNA稳定性以确保基因调控功能的发挥(图2A)。



A: miRNA不同的合成途径; B: Argonaute蛋白质在miRNA调控中的作用。Argonaute参与miRNA的调控主要有两种方式。一是招募RNA酶直接降解mRNA,此外,也可与其他蛋白(如GW182)相互作用抑制蛋白翻译。

A: different biogeneses of miRNA; B: how Argonaute works in miRNA regulation. There are two main ways of Argonaute participate in miRNA regulation. One is to recruit RNases to directly degrade the mRNA and the other is to interact with proteins like GW182 to suppress the translation.

图2 Argonaute蛋白质在miRNA合成过程及调控途径中的作用

Fig.2 Mechanisms of how Argonaute works in miRNA biogenesis and regulation

2.2.1 影响miRNA表达量 众所周知, Argonaute可锚定miRNA及其靶基因从而使基因调控顺利进行, 但Argonaute的作用不只限于为反应提供平台。目前已有不少研究显示, Argonaute可以提高成熟miRNA的稳定性, 上调miRNA的表达量及丰度。Diederichs等<sup>[19]</sup>排除了miRNA合成过程中其他蛋白质(如Drosha、Dicer等)的影响, 发现所有的人Argonaute(Argonaute 1~Argonaute 4)均可使成熟miRNA的表达量增加。这说明, Argonaute蛋白质家族在miRNA的成熟稳定中起着重要的作用, 推测其原因可能与Argonaute的空间结构有关, 因为miRNA被锚定于蛋白质的中心部位, 这减小了其被降解的概率。之后, Winter等<sup>[20]</sup>发现, 在缺乏Argonaute 2的细胞中, miRNA指导链的半衰期明显缩短, 此结果进一步支持了Argonaute可提高成熟miRNA的稳定性以增加miRNA丰度的理论。此外, 研究发现, Argonaute还可以利用miRNA的自调控途径提高miRNA的表达量。*C. elegans* AGL-1在成熟let-7 miRNA的作用下与pri-let-7结合, 使转录本的含量减少而成熟miRNA的含量增加, 对成熟miRNA的生成具有正调控作用<sup>[21]</sup>。AGL-1与pri-let-7的结合发生在细胞核, 因而该过程可能涉及其他因子的参与, 如核输出蛋白-1(ex-portin-1, XPO-1), 其深入的作用机理仍有待研究。

近来, Nishi等<sup>[22]</sup>研究人GW182蛋白质家族成员TNRC6A(trinucleotide repeat containing 6A)时发现, Argonaute可以影响TNRC6A的核定位功能间接调控miRNA的沉默机制。Argonaute蛋白质的PIWI结构域可与GW182蛋白或Dicer酶结合<sup>[23-24]</sup>, 这提示, TNRC6A可能通过竞争抑制Argonaute蛋白质与Dicer的结合, 影响pre-miRNA的加工从而实现miRNA的沉默机制的调控<sup>[25]</sup>。但也有可能是, TNRC6A直接作用与小RNA及Argonaute蛋白质的复合, 通过影响miRNA的稳定性来调控沉默作用, 然而实际的作用机理还需深入研究。

2.2.2 产生Dicer非依赖型miRNA Argonaute不仅能提高miRNA的稳定性还能作用于miRNA非经典合成过程产生新的miRNA, 丰富miRNA的种类。研究发现, 哺乳动物Argonaute 2具有剪切活性, 在某些情况下可不需要Dicer酶的作用, 直接剪切加工pre-miRNA为新的中间体ac-pre-miRNA并产生Dicer非依赖型miRNA<sup>[19]</sup>, 此类miRNA的典型代表为哺

乳动物miR-451。Cheloufi等<sup>[18]</sup>深入研究鼠胚miR-451发现, 其生成途径需要Drosha的参与, 但跳过Dicer直接与Argonaute 2作用产生miR-451, 这可能是Argonaute 2的剪切活性替代了Dicer的作用直接催化miRNA的成熟。Yang等<sup>[26]</sup>将hsa-miR-451系统直接导入果蝇细胞中, 发现其仍可发挥作用, 并进一步指出3'→5'核糖核酸外切酶可能参与ac-pre-miRNA的成熟过程, 但详细的作用机制尚不清楚。Cheloufi等<sup>[18]</sup>及Yuan等<sup>[27]</sup>发现, 红细胞的生成及肿瘤的发生等一系列生理病理过程也均与miR-451的调控有关, 这意味着由Argonaute 2剪切生成的miRNA或许是生理与病理途径交错的重要调节分子, 具有重要的研究意义。

### 3 Argonaute蛋白质在miRNA调控途径中的作用

成熟miRNA的5'端2~8位的种子区域可与其靶基因互补结合, 使其发生降解或翻译抑制, 从而实现对基因的调控作用。研究发现, Argonaute可参与miRNA的调控途径并有助于其对靶基因的翻译抑制及降解(图2B)。

#### 3.1 参与翻译抑制

越来越多的研究表明, Argonaute在靶基因的翻译抑制中发挥着重要的作用。在研究Argonaute如何阻遏蛋白质翻译中, Chendrimada等<sup>[28]</sup>认为, 真核翻译起始因子6(eukaryotic initiation factor 6, eIF6)及核糖体60S亚基能与Argonaute 2相互作用, Argonaute 2通过招募eIF6阻止完整80S核糖体的组装来抑制翻译。Kiriakidou等<sup>[29]</sup>则认为, 人Argonaute 2是通过与真核起始因子eIF4E竞争mRNA的帽子结构从而抑制翻译起始, 因为Argonaute 2的MID结构域具有eIF4E作用的相似位点。针对两种不同的观点, Eulalio等<sup>[30]</sup>在黑腹果蝇细胞上检测了各种miRNA的报告体, 认为eIF6途径并非是一般miRNA沉默所必需的。这说明, 在不同的细胞中Argonaute可能通过不同的方式发挥作用, 因此, 在分析其作用机制时应综合考虑Argonaute种属、靶基因的特点、细胞周期等因素。

细胞质处理小体(p-body)是miRNA与靶基因相互作用的最终场所, 其上存在许多的mRNA降解酶及蛋白成分<sup>[31]</sup>。Argonaute不仅可招募p-body上的各种酶降解靶基因, 还可与其蛋白成分GW182相

互作用抑制蛋白质合成。Eulalio等<sup>[30]</sup>在验证果蝇 Argonaute 1是否同人Argonaute 2一样可竞争性抑制 eIF4E与mRNA的结合时,意外发现,果蝇Argonaute 1虽不能竞争性抑制eIF4E,但却能与GW182共同影响miRNA的结合,说明Argonaute的翻译抑制机制在不同的种属存在差异。Chekulaev等<sup>[32]</sup>在对GW182的结构研究中指出, GW182蛋白质家族的C-端可招募poly(A)结合蛋白C1[Poly(A) binding protein cyto-plasmic 1, PABPC1]、PAN2-PAN3和CCR4-NOT腺嘌呤酶复合物,诱导靶mRNA翻译抑制或降解。Nishi等<sup>[33]</sup>则进一步指出GW182 N-端的GW重复序列可与Argonaute的PIWI结构域结合,因此Argonaute可能通过GW182招募其他效应分子,间接抑制mRNA的翻译。以上研究结果均表明, Argonaute与GW182的相互作用对miRNA的沉默机制具有重要的影响<sup>[34-35]</sup>。

### 3.2 参与降解mRNA

在对拟南芥Argonaute的研究中发现, Argonaute亦参与mRNA的直接降解过程。拟南芥Argonaute 1与21 nt的miRNA复合为RISC后,可招募3'→5'外切体对靶mRNA的3'端进行剪切,招募5'→3'外源性核糖核酸酶降解5'端,对靶mRNA直接进行剪切降解。但拟南芥Argonaute 1与22 nt的miRNA结合后则指导RNA聚合酶RDR6(RNA-dependant RNA polymerase 6)在靶mRNA的3'端生成siRNA,以siRNA的方式降解靶mRNA<sup>[36-37]</sup>。研究认为,拟南芥中靶基因不同降解机制的发生可能与miRNA的长度有关,但是否如此以及Argonaute到底如何介导上述结果的发生仍有待研究。

## 4 展望

miRNA介导着机体基因转录水平及转录后水平的调控,在机体生命过程中具有重要意义,因此,越来越多的目光聚集到这类小RNA分子上。由于miRNA合成过程及调控途径中的众多因素皆可影响调控结果,因此其调控机制显得纵横复杂。Argonaute是miRNA沉默途径中的重要效应蛋白,通过Argonaute梳理miRNA介导的基因调控途径中复杂的影响因素有利于对miRNA基因调控网络的深入剖析。然而,目前研究中仍有许多值得我们深入思索的问题,如不同种属Argonaute与miRNA作用机制的差异是什么, Argonaute与GW182家族等相互作

用影响miRNA沉默作用的具体机制是什么?利用 pull down方法解析miRNA与其靶mRNA的方法已逐渐成熟,但如何优化条件使分析更加精确以及如何对数据进行深度挖掘都是我们仍待努力的方向。虽然目前许多研究都存在空白,但相信随着研究的深入, Argonaute与miRNA介导的基因调控的联系会更加明朗。

### 参考文献 (References)

- 1 Sun K, Lai EC. Adult-specific functions of animal microRNAs. *Nat Rev Genet* 2013; 14(8): 535-48.
- 2 Romerocordoba SL, Salidoguardarrama I, Rodriguezdorantes M, Hidalgomiranda A. miRNA biogenesis: Biological impact in the development of cancer. *Cancer Biol Ther* 2014; 15(11): 1444-55.
- 3 Bronevetsky Y, Villarino AV, Eisley CJ, Barbeau R, Barczak AJ, Heinz GA, *et al.* T cell activation induces proteasomal degradation of Argonaute and rapid remodeling of the microRNA repertoire. *J Exp Med* 2013; 210(2): 417-32.
- 4 Shoji M, Tanaka T, Hosokawa M, Reuter M, Stark A, Kato Y, *et al.* The TDRD9-MIWI2 complex is essential for piRNA-mediated retrotransposon silencing in the mouse male germline. *Dev Cell* 2009; 17(6): 775-87.
- 5 Kwak PB, Tomari Y. The N domain of Argonaute drives duplex unwinding during RISC assembly. *Nat Struct Mol Biol* 2012; 19(2): 145-51.
- 6 Song JJ, Smith SK, Hannon GJ, Joshua-Tor L. Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity. *Science* 2004; 305(5689): 1434-7.
- 7 Kuhn CD, Joshua-Tor L. Eukaryotic Argonautes come into focus. *Trends Biochem Sci* 2013; 38(5): 263-71.
- 8 Lingel A, Simon B, Izaurralde ESattler M. Nucleic acid 3'-end recognition by the Argonaute 2 PAZ domain. *Nat Struct Mol Biol* 2004; 11(6): 576-7.
- 9 Song JJ, Liu J, Tolia NH, Schneiderman J, Smith SK, Martienssen RA, *et al.* The crystal structure of the Argonaute 2 PAZ domain reveals an RNA binding motif in RNAi effector complexes. *Nat Struct Mol Biol* 2003; 10(12): 1026-32.
- 10 Parker JS, Roe SM, Barford D. Crystal structure of a PIWI protein suggests mechanisms for siRNA recognition and slicer activity. *EMBO J* 2004; 23(24): 4727-37.
- 11 Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13(12): 1097-101.
- 12 Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, *et al.* MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J* 2004; 23(20): 4051-60.
- 13 Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, Hannon GJ. Processing of primary microRNAs by the microprocessor complex. *Nature* 2004; 432(7014): 231-5.
- 14 Han J, Lee Y, Yeom KH, Nam JW, Heo I, Rhee JK, *et al.* Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell* 2006; 125(5): 887-901.
- 15 Wang HW, Noland C, Siridechadilok B, Taylor DW, Ma E, Felderer K, *et al.* Structural insights into RNA processing by

- the human RISC-loading complex. *Nat Struct Mol Biol* 2009; 16(11): 1148-53.
- 16 Liu X, Jin DY, McManus MT, Mourelatos Z. Precursor microRNA-programmed silencing complex assembly pathways in mammals. *Mol Cell* 2012; 46(4): 507-17.
- 17 Okamura K, Hagen JW, Duan H, Tyler DMLai EC. The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in *Drosophila*. *Cell* 2007; 130(1): 89-100.
- 18 Cheloufi S, Dos Santos CO, Chong MM, Hannon GJ. A dicer-independent miRNA biogenesis pathway that requires Ago catalysis. *Nature* 2010; 465(7298): 584-9.
- 19 Diederichs S, Haber DA. Dual role for argonautes in microRNA processing and posttranscriptional regulation of microRNA expression. *Cell* 2007; 131(6): 1097-108.
- 20 Winter J, Diederichs S. Argonaute proteins regulate microRNA stability: Increased microRNA abundance by Argonaute proteins is due to microRNA stabilization. *RNA Biol* 2011; 8(6): 1149-57.
- 21 Zisoulis DG, Kai ZS, Chang RK, Pasquinelli AE. Autoregulation of microRNA biogenesis by let-7 and Argonaute. *Nature* 2012; 486(7404): 541-4.
- 22 Nishi K, Takahashi T, Suzawa M, Miyakawa T, Nagasawa T, Ming Y, *et al.* Control of the localization and function of a miRNA silencing component TNRC6A by Argonaute protein. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(20): 9856-73.
- 23 Lian SL, Li S, Abadal GX, Pauley BA, Fritzier MJ, Chan EK. The C-terminal half of human Ago2 binds to multiple GW-rich regions of GW182 and requires GW182 to mediate silencing. *RNA* 2009; 15(5): 804-13.
- 24 Kanellopoulou C, Muljo SA, Kung AL, Ganesan S, Drapkin R, Jenuwein T, *et al.* Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing. *Genes Dev* 2005; 19(4): 489-501.
- 25 Ota H, Sakurai M, Gupta R, Valente L, Wulff BE, Ariyoshi K, *et al.* ADAR1 forms a complex with Dicer to promote microRNA processing and RNA-induced gene silencing. *Cell* 2013; 153(3): 575-89.
- 26 Yang JS, Smibert P, Westholm JO, Jee D, Maurin T, Lai EC. Intertwined pathways for Argonaute-mediated microRNA biogenesis in *Drosophila*. *Nucleic Acids Res* 2014; 42(3): 1987-2002.
- 27 Yuan J, Lang J, Liu C, Zhou K, Chen L, Liu Y. The expression and function of miRNA-451 in osteosarcoma. *Med Oncol* 2015; 32(1): 1-7.
- 28 Chendrimada TP, Finn KJ, Ji X, Baillat D, Gregory RI, Liebhaber SA, *et al.* MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6. *Nature* 2007; 447(7146): 823-8.
- 29 Kiriakidou M, Tan GS, Lamprinaki S, De Planell-Saguer M, Nelson PT, Mourelatos Z. An mRNA m7G cap binding-like motif within human Ago2 represses translation. *Cell* 2007; 129(6): 1141-51.
- 30 Eulalio A, Huntzinger EIzaurrealde E. GW182 interaction with Argonaute is essential for miRNA-mediated translational repression and mRNA decay. *Nat Struct Mol Biol* 2008; 15(4): 346-53.
- 31 Decker CJParker R. P-bodies and stress granules: Possible roles in the control of translation and mRNA degradation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012; 4(9): a012286-a86.
- 32 Chekulaeva M, Mathys H, Zipprich JT, Attig J, Colic M, Parker R, *et al.* miRNA repression involves GW182-mediated recruitment of CCR4-NOT through conserved W-containing motifs. *Nat Struct Mol Biol* 2011; 18(11): 1218-26.
- 33 Nishi K, Ai N, Nagasawa T, Ui-Tei K. Human TNRC6A is an Argonaute-navigator protein for microRNA-mediated gene silencing in the nucleus. *RNA* 2013; 19(1): 17-35.
- 34 Braun JE, Huntzinger EIzaurrealde E. A molecular link between miRISCs and deadenylases provides new insight into the mechanism of gene silencing by microRNAs. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012; 4(12): 653-60.
- 35 Eulalio A, Tritschler FIzaurrealde E. The GW182 protein family in animal cells: New insights into domains required for miRNA. *RNA* 2009; 15(8): 1433-42.
- 36 Mallory A, Vaucheret H. Form, function, and regulation of ARGONAUTE proteins. *Plant Cell* 2010; 22(12): 3879-89.
- 37 Chekanova JA, Gregory BD, Reverdatto SV, Chen H, Kumar R, Hooker T, *et al.* Genome-wide high-resolution mapping of exosome substrates reveals hidden features in the Arabidopsis transcriptome. *Cell* 2007; 131(7): 1340-53.